

- For more records, click the Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click Display Selected.
- To print/save clean copies of selected records from browser click Print/Save Selected.
- To have records sent as hardcopy or via email, click Send Results.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	<input type="checkbox"/> Print/Save Selected	<input type="checkbox"/> Send Results	<input type="checkbox"/> Display Selected	Format <input type="checkbox"/> Free
--	---	--	---------------------------------------	---	---

1. ☐ 12/5/1 DIALOG(R)File 352:Derwent WPI (c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

012420003

WPI Acc No: 1999-226111/199919

XRAM Acc No: C99-066445

New agent for inhibiting monocyte chemotactic protein-1  
activity - useful for preventing and treating cerebral infarction

Patent Assignee: TEIJIN LTD (TEIJ )

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 11060502	A	19990302	JP 97217365	A	19970812	199919 B

Priority Applications (No Type Date): JP 97217365 A 19970812

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 11060502	A	5	A61K-039/395	

Abstract (Basic): JP 11060502 A

New preventive or treating agent for cerebral infarction comprises  
an agent which inhibits the activity of Monocyte Chemotactic Protein-1  
(MCP-1) as active ingredient.

USE - The agent is effective for the prevention and treatment of  
cerebral infarction. The composition is formulated into soft or hard  
capsules, tablets, granules, powder, suspension, liquid or syrup for  
oral admin.; or injection, suppositories or external medicine.

Dwg. 0/6

Title Terms: NEW; AGENT; INHIBIT; MONOCYTE; CHEMOTACTIC; PROTEIN; ACTIVE;  
USEFUL; PREVENT; TREAT; CEREBRAL; INFARCTION

Derwent Class: B04; D16

International Patent Class (Main): A61K-039/395

International Patent Class (Additional): A61K-031/557; A61K-038/00;  
A61K-045/00

File Segment: CPI

Derwent WPI (Dialog® File 352): (c) 2005 Thomson Derwent. All rights reserved.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	<input type="checkbox"/> Print/Save Selected	<input type="checkbox"/> Send Results	<input type="checkbox"/> Display Selected	Format <input type="checkbox"/> Free
--	---	--	---------------------------------------	---	---

© 2005 Dialog, a Thomson business

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-60502

(43) 公開日 平成11年(1999) 3月2日

(51) Int.Cl.<sup>8</sup>

A 6 1 K 39/395

識別記号

A B N

F I

A 6 1 K 39/395

A B N D

N

31/557

38/00

45/00

31/557

45/00

37/02

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平9-217365

(22) 出願日

平成9年(1997) 8月12日

(71) 出願人 000003001

帝人株式会社

大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号

(72) 発明者 遠藤 則明

東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人  
株式会社東京研究センター内

(72) 発明者 田辺 裕史

東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人  
株式会社東京研究センター内

(72) 発明者 山上 伸介

東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人  
株式会社東京研究センター内

(74) 代理人 弁理士 前田 純博

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脳梗塞症治療薬もしくは予防薬

(57) 【要約】

【課題】 脳梗塞の予防や治療に有効な薬剤を提供する。

【解決手段】 MCP-1の作用を阻害する薬剤、例えば抗MCP-1中和抗体、MCP-1レセプター拮抗剤、MCP-1蛋白改変体、あるいは細胞遊走阻害活性をもつプロスタグランジン類を有効成分とする脳梗塞症治療薬もしくは予防薬。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 MCP-1の作用を阻害する薬剤を有効成分とする脳梗塞症治療薬もしくは予防薬。

【請求項2】 MCP-1の作用を阻害する薬剤が抗MCP-1中和抗体である請求項1記載の脳梗塞症治療薬もしくは予防薬。

【請求項3】 MCP-1の作用を阻害する薬剤がMCP-1レセプター拮抗剤である請求項1記載の脳梗塞症治療薬もしくは予防薬。

【請求項4】 MCP-1の作用を阻害する薬剤がMCP-1蛋白改変体である請求項1記載の脳梗塞症治療薬もしくは予防薬。

【請求項5】 MCP-1の作用を阻害する薬剤がMCP-1によって惹起される細胞遊走の阻害活性を有するプロスタグランジン類である請求項1記載の脳梗塞症治療薬もしくは予防薬。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、MCP-1の作用を阻害する作用をもつ有効成分を用いた脳梗塞症治療薬もしくは予防薬に関する。

## 【0002】

【従来の技術】MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1の略称; 別称MCAF (Macrophage Chemotactic and Activating Factorの略称)) は、アミノ酸76個からなる蛋白として同定及び遺伝子クローニングされた代表的ケモカインのひとつである(例えば、Rollins, B. J., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85:3738-3742, Manthusima, K. et al. Journal of Experimental Medicine (1989) 169:1485-1490, Yoshimura, T., et al. FEBS Letters (1989) 244:487-493など参照)。MCP-1は、マクロファージ、平滑筋細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞などより種々の刺激に応じて産生され、単球、メモリーT細胞、ナチュラルキラー細胞等に対し、細胞遊走活性及び細胞接着増強作用を有し、さらには抗塩基球からのヒスタミン放出因子としての作用を有しており、炎症反応を担う重要な因子として知られる(例えば、Rollins, B. J., et al. Blood (1991) 78:1112-1116, Carr, M. W., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1994) 91:3652-3656, Jiang, Y., et al. American Journal of Physiology (1994) 267:C1112-C1118, Allavena, P., et al. European Journal of Immunology (1994) 24:3233-3236, Alam, R., et al. Journal of Clinical Investigation (1992) 89:723-728など参照)。

【0003】ケモカインは、炎症部位等で産生され、分子量が6~15Kdで、4個のシステインを有し、塩基性かつヘパリン結合性の生理活性蛋白の総称である。ケ

モカインは4個のシステインの配置の共通性及び対応する遺伝子が存在する染色体の違いにより2種のサブファミリー、すなわちCXCケモカイン、CCケモカインに大別される。MCP-1はCCケモカインに属し、他にこのファミリーに属する蛋白として、RANTES、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ などが知られている。これらMCP-1等のケモカインは、炎症組織等の病変部位への白血球等の炎症細胞の集積及び活性化を担う重要な因子である(例えば、Oppenheim, J. J. et al. Annual Review of Immunology (1991) 9:617-648, Schall, T. J. Cytokine (1991) 3:165-183, Springer, T. A. Cell (1994) 76:301-314, Furie, M. B. American Journal of Pathology (1995) 146:1287-1301など参照)。

【0004】脳梗塞症において白血球(初期には主に好中球、続いてモノサイト/マクロファージなど)は梗塞巣に浸潤し、病態に関与する可能性が示唆されている。

(例えば、Hartl R.ら(1996年) JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM 第16巻1108~1119頁など参照)。また、脳梗塞症動物モデルにおいてMCP-1 mRNAは梗塞部位において発現を認め、モノサイト/マクロファージの浸潤に深く関わっていることが強く示唆されている(Wang X.ら(1995年) STROKE 第26巻661~666頁など参照)。しかしながらMCP-1の病態形成における役割は明らかにされておらず、MCP-1の作用を阻害することが脳梗塞症の治療および/または予防上有用であるかは知られていない。

【0005】脳梗塞症に対する薬物療法として、抗血小板薬、抗凝固薬、血栓溶解薬、脳代謝改善薬などが用いられているが、どのような症状にも優れた薬効を示す決定的な薬剤はなく、新たな作用機序を有する薬剤が求められている。

## 【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、脳梗塞症に対する治療および/または予防薬を提供することである。ことに、これまで既存薬では有効なものがない脳梗塞症、すなわち白血球、特に単球/マクロファージの浸潤、活性化を特徴とする脳梗塞症に対する治療および/または予防薬を提供することである。

## 【0007】

【課題を解決するための手段】このような従来技術に鑑みて、本発明者らは鋭意研究をかさねた結果、MCP-1の作用を阻害する物質が、脳梗塞症において治療および/または予防効果を有することを知見し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明はMCP-1の作用を阻害する薬剤を有効成分とする脳梗塞症治療薬もしくは予防薬である。

## 【0008】

【発明の実施の形態】本発明において用いられるMCP-1の作用を阻害する薬剤としては、(1) MCP-1に結合してMCP-1の作用を阻害するもの、例えば抗MCP-1中和抗体、(2) MCP-1レセプターあるいはMCP-1レセプター保有細胞に作用してMCP-1の作用を阻害するもの、例えばMCP-1レセプター拮抗剤などが挙げられる。さらには、MCP-1蛋白改変体などもMCP-1の作用を阻害する薬剤として挙げられる。

【0009】抗MCP-1中和抗体としては、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体いずれでもよく、好ましくはヒトモノクローナル抗体が用いられる。例えば、特開平6-205690号公報にある抗ヒトMCP-1中和抗体が挙げられる。後述の実施例においては、抗ラットMCP-1中和抗体を作製し用いた。

【0010】MCP-1レセプター保有細胞に作用してMCP-1の作用を阻害する薬剤としては、例えば、特開平7-188025号公報、特開平8-209600号公報に記載のMCP-1によって惹起される細胞遊走の阻害活性を有するプロスタグランジン類化合物が含まれる。さらには、MCP-1レセプター拮抗剤あるいはMCP-1レセプターに対する抗体等もMCP-1レセプター保有細胞に作用してMCP-1の作用を阻害する薬剤として有用である。

【0011】MCP-1蛋白改変体としては、例えばWO95/13295号、WO96/38559号パンフレットに記載のN端アミノ酸欠損MCP-1改変体7ND、第28チロシン変換MCP-1改変体Y28Dなどが含まれる。

【0012】本発明で用いられるMCP-1の作用を阻害する薬剤は、好ましくは製薬学的に許容される担体と配合することによって、本発明の脳梗塞症治療薬もしくは予防薬として用いることができる。この場合の製薬学的に許容される担体としては、後記賦形剤と同様のものを挙げることができる。この場合のMCP-1の作用を阻害する薬剤と担体との配合量については、後記のように活性成分の投与量に従うが、特に限定されず、広範囲に選択され、通常MCP-1の作用を阻害する薬剤は全組成物中1~70重量%、好ましくは5~50重量%である。得られた組成物は、更に公知の方法で適当な賦形剤等を用いて軟カプセル剤、硬カプセル剤、錠剤、顆粒剤、散剤、懸濁剤、液剤、シロップ剤等の経口剤、注射剤、座剤、または外用剤として提供される。

【0013】かかる賦形剤としては、植物油（例えばトウモロコシ油、綿実油、ココナッツ油、アーモンド油、落花生油、オリーブ油等）、中鎖脂肪酸グリセリド油等の油状エステル、鉱物油、トリカプリリン、トリアセチン等のグリセリンエステル類、エタノール等のアルコール類、生理食塩水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、動物油脂、セルロース誘導

体（結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース）、ポリビニルピロリドン、シクロデキストリン、デキストリン、乳糖、マンニトール、ソルビトール、デンプン等が挙げられる。

【0014】活性成分の投与量は、疾患の程度、患者の年齢等にもよるが、一日につき一人あたり0.01mgから1000mg程度で、好ましくは一日につき一人あたり1mgから200mgであり、このような条件を満たすように製剤するのが好ましい。

【0015】

【実施例】

【実施例1】

ラットMCP-1に対するポリクローナル抗体の作製  
組換え型ラットMCP-1（ペプロテック社より購入）をウサギ背部皮下にフロイント完全アジュバントと共に免疫した。4週間後同様に2回目の免疫を行った。2回目の免疫から4週間後より、1週間毎に計4回、ウサギ末梢血より血清を採取した。

【0016】採取した血清は、プロテインGアフィニティカラムで精製を行い、抗ラットMCP-1ポリクローナル抗体とした。ポリクローナル抗体のラットMCP-1への反応特異性はELISA法により確認した。その結果を図1に示した。マウスMCP-1、ヒトMCP-1と交差反応性を示したが、他のケモカインに対しては全く反応せず、作製した抗体のMCP-1特異性が確認された。

【0017】抗体の中和活性は、ヒト単球由来細胞株THP-1細胞（ATCCより購入）に対する<sup>125</sup>I]標識ヒトMCP-1の結合阻害実験、およびラットMCP-1により惹起されるTHP-1細胞の遊走阻害実験により確認した。その結果を図2および図3にそれぞれ示す。これらの結果より、抗ラットMCP-1ポリクローナル抗体は、THP-1細胞に対する<sup>125</sup>I]標識ヒトMCP-1の結合、およびラットMCP-1により惹起されるTHP-1細胞の遊走を抑制する中和抗体であることが判明した。

【0018】【実施例2】

脳梗塞モデルにおける抗ラットMCP-1抗体の効果

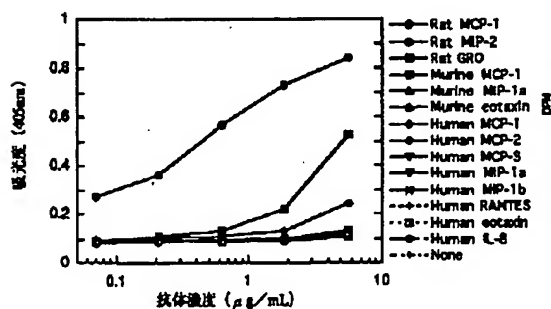
1. ラット中大脳動脈閉塞虚血再灌流モデルの作製  
ラット中大脳動脈虚血再灌流モデルは小泉らの方法（脳卒中 第8巻1-8頁1986年）に準じて実施した。塞栓子は、ナイロン縫合糸4.0号（日本商事）の一端をキサントブレイン（バイエル日本歯科）で口径0.27-0.29mmになるように被覆したものを使用した。実験動物にはWistar/STラット（日本エスエルシー）の9週齢（体重300g前後）を使用した。虚血再灌流手術はハロセン麻酔（5%導入、1.5%維持）下で、右総頸動脈から内頸動脈方向に塞栓子を15-16mm程度挿入して中大脳動脈起始部を塞いで虚血

した。1時間後抜去して再灌流させた。

【0019】2. 抗ラットMCP-1抗体の有効性の評価

動物を2群に分けて、一方には抗ラットMCP-1抗体を10mg/kg、他方には正常ウサギIgGを10mg/kgの量で、虚血手術直前に頸静脈から投与した。再灌流後毎日体重を測定し、また5日後に大脳を摘出し、前頭極から2mm間隔の切片を作製し2% TTC (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride 和光純薬) 含有生理食塩水中で37℃15分間振とうすることにより染色後、10%リン酸緩衝ホルマリン(国産化学)中で固定した。染色した各切片を画像解析処理(コンピュータ:マッキントッシュ(アップルコンピュータ)、スキャナ:GT-6000(エプソン)、ソフトウェア:Adobe Photoshop 2.5(Adobe Systems))を用いて梗塞巣面積、および各切片の積分値で、梗塞巣体積の評価を実施した。

【図1】



【0020】

【発明の効果】以上により、抗ラットMCP-1抗体は梗塞巣の抑制効果(図4および図5参照)および体重減少抑制効果(図6参照)を示し、有効性を有することが判明した。したがって、本発明の、MCP-1の作用を阻害する薬剤を有効成分とする薬剤は、脳梗塞症の治療薬もしくは予防薬として用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】ELISA法による抗ラットMCP-1抗体のケモカインに対する反応性の確認

【図2】抗ラットMCP-1抗体のMCP-1結合阻害活性

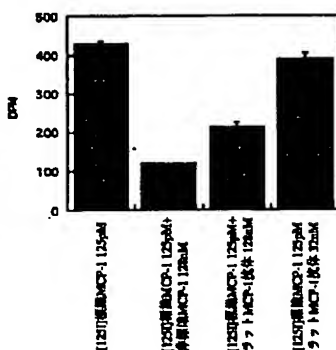
【図3】抗ラットMCP-1抗体のTHP-1細胞遊走抑制試験

【図4】大脳全体の体積に対する梗塞巣の割合

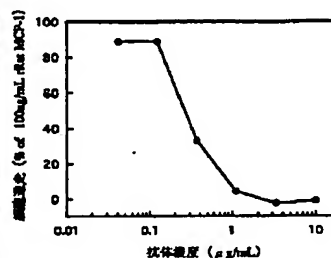
【図5】切片の断面における梗塞巣の割合

【図6】体重の推移

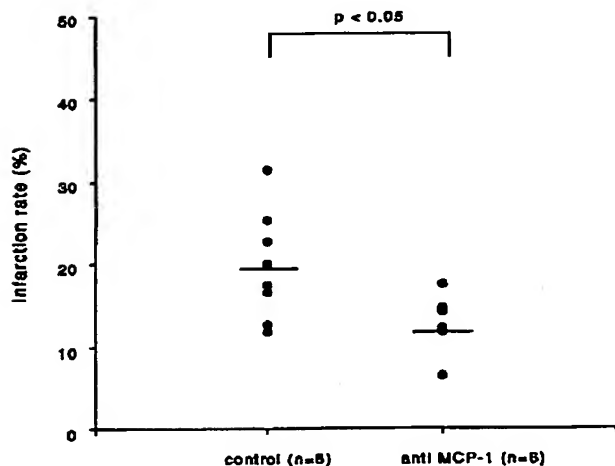
【図2】



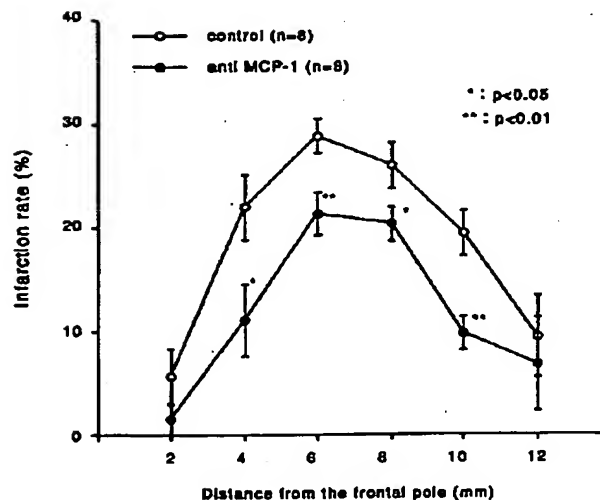
【図3】



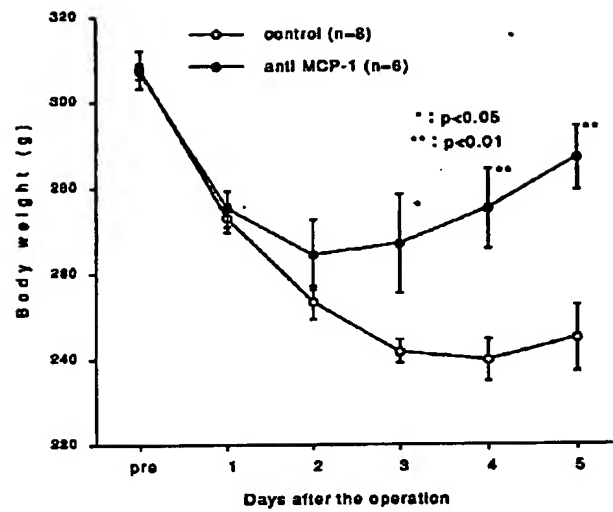
【図4】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

(72)発明者 田村 みずほ  
東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人  
株式会社東京研究センター内

(72)発明者 森田 卓也  
東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人  
株式会社東京研究センター内